

引文格式: 武永杰, 范宁娟, 陈鸿, 等. 不同发育阶段关中奶山羊睾丸间质细胞的生物学特性[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2024, 39(5): 31–39. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202403026](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202403026)

不同发育阶段关中奶山羊睾丸间质细胞的生物学特性*

武永杰¹, 范宁娟², 陈 鸿¹, 赵芳娥¹, 马 琳^{1**}, 徐永平^{1**}

(1. 西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:【目的】研究幼龄期、初情期和成年期关中奶山羊睾丸间质细胞(Leydig cells, LCs)的形态、分布特点、超微结构特征及睾酮合成水平, 解析不同发育阶段LCs的形态特征与睾酮合成水平之间的相关性。【方法】使用光镜和改良后的透射电镜技术观察不同月龄奶山羊LCs的形态、分布规律及超微结构特征; 采用免疫组织化学染色方法检测睾酮合成关键酶3 β -羟基类固醇脱氢酶的表达和分布; 采用酶联免疫吸附试验检测血清中促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和睾酮含量的变化; 采用荧光定量PCR和免疫印迹技术分析LCs成熟和睾酮合成关键基因/蛋白表达的规律。【结果】与幼龄期相比, 初情期和成年期的LCs逐渐变大、呈不规则多边形, 且逐渐向间质中央移动。初情期和成年期的LCs胞质内含有大量脂滴, 且脂滴与线粒体、光面内质网等细胞器密切接触。随着性成熟, 血清中的LH和睾酮含量显著或极显著增加, 睾丸组织中与睾酮合成相关的基因表达水平显著或极显著上调。【结论】关中奶山羊LCs的睾酮合成能力与其发育成熟过程密切相关, 初情期和成年期的LCs胞质内存在大量脂滴且与线粒体直接接触, 这为形态学方法研究脂滴参与睾酮的合成提供了科学依据。

关键词: 奶山羊; 形态学方法; 睾丸间质细胞; 睾酮; 脂滴

中图分类号: S827.941 文献标志码: A 文章编号: 1004-390X(2024)05-0031-09

Biological Characteristics of Leydig Cells in Different Developmental Stages of Guanzhong Dairy Goats

WU Yongjie¹, FAN Ningjuan², CHEN Hong¹, ZHAO Fang'e¹, MA Lin¹, XU Yongping¹

(1. College of Veterinary Medicine, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China;

2. College of Life Sciences, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China)

Abstract: [Purpose] To study the morphology, distribution characteristics, ultrastructure characteristics and testosterone synthesis level of Leydig cells (LCs) in Guanzhong dairy goats at juvenile stage, puberty, and adult stage. [Methods] The morphology, distribution and ultrastructural characteristics of LCs in dairy goats at different ages were observed by light microscope and modified transmission electron microscopy methods. Immunohistochemistry method was employed to detect the expression and distribution of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, which was the key enzymes of

收稿日期: 2024-03-15

修回日期: 2024-10-04

网络首发日期: 2024-10-28

*基金项目: 国家自然科学基金项目(32372969, 32002242)。

作者简介: 武永杰(1979—), 男, 河南西平人, 硕士, 实验师, 主要从事动物内分泌及形态与机能研究。

E-mail: wyj79821@163.com

**通信作者 Corresponding authors: 马琳(1986—), 女, 山东德州人, 硕士, 实验师, 主要从事动物内分泌及形态与机能研究。E-mail: 82581588@qq.com; 徐永平(1971—), 男, 新疆巴楚人, 博士, 副教授, 主要从事神经免疫内分泌调控研究。E-mail: 443578409@qq.com

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20241028.1334.001>



testosterone synthesis. The contents of luteinizing hormone (LH) and testosterone in serum were tested by enzyme-linked immunosorbent assay. The expression levels of LCs maturation-related genes and testosterone synthesis-related genes or proteins were analyzed by qPCR and Western-blotting.

[**Results**] Compared with the juvenile stage, LCs in the puberty and adult stage gradually increased in size, formed irregular shapes, and gradually moved towards the center of the testicular interstitial. The cytoplasm of LCs in puberty and adult stage contained a large amount of lipid droplets, which were in close contact with organelles such as mitochondria and smooth endoplasmic reticulum. With the maturation of dairy goats, the contents of LH and testosterone in serum increased significantly or extremely significantly, and the expression levels of genes related to testosterone synthesis in testicular tissues were significantly or extremely significantly up-regulated. [**Conclusion**] The testosterone synthesis ability of Guanzhong dairy goat LCs is closely related to its development and maturation. There are a lot of lipid droplets in the cytoplasm of LCs during puberty and adult stage, which directly contact with mitochondria. The results provide a scientific basis for morphological study of lipid droplets involved in testosterone synthesis.

Keywords: dairy goats; morphological methods; Leydig cells; testosterone; lipid droplets

奶山羊 (*Capra hircus*) 作为重要的经济草食家畜, 具有饲养成本低、占地面积小、适应能力强等特点, 是中国农村经济发展的支柱产业之一^[1]。种公羊的精液质量是影响繁殖率的重要因素, 睾酮合成能力的强弱则直接决定精液品质^[2]。睾酮是睾丸间质细胞 (Leydig cells, LCs) 产生的一种类固醇激素, 与家畜繁殖活动密切相关。雄性奶山羊繁殖季的血浆睾酮水平显著高于非繁殖季, 且交配行为与睾酮水平显著相关^[3]。睾酮可促进精子发生, 提高精子数量和活力, 改善精液质量^[4]。

LCs 合成睾酮受下丘脑—垂体—睾丸轴 (hypothalamus-pituitary-testis, HPT) 调控, 垂体分泌的促黄体生成素 (luteinizing hormone, LH) 与 LH 受体 (LH receptor, LHR) 结合, 促进睾酮合成^[5]。啮齿类动物中, LCs 发育分为 4 个不同阶段: 睾丸间质干细胞 (stem Leydig cells, SLCs)、睾丸间质祖细胞 (progenitor Leydig cells, PLCs)、未成熟睾丸间质细胞 (immature Leydig cells, ILCs) 和成熟睾丸间质细胞 (adult Leydig cells, ALCs)^[6]。其中, SLCs 和 PLCs 不具备睾酮合成能力, ILCs 主要产生雄烯二酮, ALCs 则主要合成睾酮^[7]。与啮齿类动物不同, 初情期前家畜的 HPT 轴未被激活, LCs 发育处于静息期^[8], 此时 LCs 具有低水平的睾酮合成能力^[9]; 初情期, HPT 轴被激活, 释放 LH, ILCs 转变为 ALCs, 促进睾酮的合成^[10]。但是, 目前鲜有奶山羊不同发育阶段 LCs 的形态

变化特征及睾酮合成规律的研究报道。

本研究以关中奶山羊为试验对象, 采用多种形态学技术分析不同发育阶段奶山羊 LCs 的生物学特性, 进一步检测睾酮合成关键酶的动态变化规律。研究结果可为揭示奶山羊睾酮合成的分子机制奠定形态学基础, 也可为进一步完善哺乳动物精子发生调控网络提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

苏木精—伊红 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色试剂盒 (索莱宝, G1120); 油红 O 染色试剂盒 (Sigma, O0625); 3 β -羟基类固醇脱氢酶 (hydroxysteroid dehydrogenase, HSD) 兔多克隆抗体 (爱博泰克, A1823); StAR 兔多克隆抗体 (Affinit, DF6192); Cyp11a1 兔多克隆抗体 (爱博泰克, A1713); 17 β -HSD 兔多克隆抗体 (Affinit, DF7790); GAPDH 兔多克隆抗体 (Affinit, AF7021); 山羊 LH 和山羊睾酮酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (上海酶联生物); RIPA 裂解液 (Thermo Scientific); 增强型 ECL 化学发光液 (Millipore); HRP 标记的羊抗鼠二抗、羊抗兔二抗和二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白浓度检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术公司。

1.2 试验动物与样品采集

选取 2~3 月龄 (幼龄期)、6~8 月龄 (初情期)

和18~24月龄(成年期)的健康雄性关中奶山羊各5只用于研究。供试动物由西北农林科技大学实验动物中心提供,许可证号为:SYXK(陕)2022-03。颈静脉采集血液样品后,4℃静置30 min,随后3000 r/min离心15 min,收集血清样品并分装冻存,用于后续试验。奶山羊进行实验室麻醉,手术切开阴囊壁,摘取两侧睾丸样品,迅速放入盛有25~35℃的灭菌PBS缓冲液中洗涤2~3次。取一侧部分样品用于透射电镜制样,剩余样品液氮冻存。另一侧部分样品迅速用最佳切割温度(optimal cutting temperature, OCT)包埋剂包埋,用于制备冰冻切片,再进行油红O染色;剩余睾丸组织样品以4%多聚甲醛固定液固定,用于制备石蜡切片,再进行HE染色。动物试验通过西北农林科技大学生物安全委员会的审核,许可证号为:DY2023033。

1.3 睾丸组织的HE染色

将睾丸样品切割成小块组织,以4%多聚甲醛固定24 h。样品上行梯度乙醇脱水→二甲苯透明→石蜡包埋→切片机切取5 μm切片;组织切片下行梯度乙醇脱蜡→HE染色→中性树胶封片。使用光学显微镜观察并拍照。

1.4 油红O染色

将睾丸组织冰冻切片置于室温晾干,以冷丙酮固定10 min, PBS洗涤3次。油红O染色液($V_{\text{油红O原液}}:V_{\text{去离子水}}=3:2$)室温染色15 min,然后用苏木素复染细胞核,再用甘油明胶封片,置于光学显微镜下观察并拍照。

1.5 免疫组织化学检测

将睾丸组织石蜡切片脱蜡,先用3% H_2O_2 室温孵育10 min,然后用柠檬酸盐缓冲液进行抗原热修复,再用5% BSA室温孵育30 min。 $\beta\text{-HSD}$ 一抗(LCs特异性标记Marker)4℃孵育过夜, PBS洗涤5次;二抗室温孵育40 min, DAB显色5 min,苏木精复染,上行梯度乙醇脱水,中性树胶封片。使用显微镜观察并拍照。

1.6 奶山羊睾丸组织透射电镜制样

脂滴为脂溶性细胞器,常规透射电镜制样过程中,梯度乙醇脱水环节容易造成脂滴形态结构损坏,导致LCs超微结构特征改变,因此,本研究对透射电镜制样方法进行改良,具体操作为:将切成1 mm³的睾丸组织样品用强渗透能力的2.5%戊二醛—4%多聚甲醛混合缓冲固定液固定

1.5~3.0 h,再用经过预冷的2.5%戊二醛—PBS缓冲液固定过夜;次日用PBS洗涤5次,再用1%锇酸室温固定2 h,上行梯度乙醇脱水,丙酮置换,Epon 812包埋。先半薄切片,甲苯胺蓝染色定位后进行超薄切片(50 nm),采用醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,置于透射电子显微镜下观察LCs的超微结构特征并拍照。

1.7 ELISA检测血清中LH和睾酮的含量

按ELISA试剂盒说明书进行,每孔加入待测血清样品50 μL,重复5次。使用酶标仪检测波长450 nm下的吸光度值(OD值)。

1.8 睾丸组织RNA提取及荧光定量PCR(qPCR)检测

采用Trizol法提取睾丸组织总RNA,使用核酸分析仪(NanoDrop 2000)检测RNA的纯度和浓度;随后逆转录合成cDNA,采用Absolute qPCR SYBR Green Mix Kit试剂盒进行qPCR检测。检测对象包括:胆固醇转运相关基因、睾酮合成相关基因、LCs成熟关键基因以及内参基因(*GAPDH*),共计16个(表1)。每个核酸样品重复5次,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值表示基因相对表达量。

1.9 蛋白免疫印迹(Western-blot)检测

采用RIPA裂解法提取睾丸组织总蛋白,使用BCA法检测蛋白浓度;经SDS-PAGE电泳后,采用湿转法将蛋白转移至PVDF膜上,用5%脱脂奶粉孵育30 min,漂洗后置于待检测抗体溶液中,4℃孵育过夜;用TBST缓冲液洗涤3次,加入增强型ECL发光液后置于凝胶成像系统中进行检测,采用Quantity One软件分析。

1.10 数据处理与统计分析

使用SPSS 16.0和GraphPad Prism 9.0进行数据分析和制图,结果以“平均值±标准误”表示;数据采用Tukey试验多重比较法分析组间差异。

2 结果与分析

2.1 不同发育阶段奶山羊LCs的分布特点

奶山羊LCs分布于曲细精管(seminiferous tubules, ST)之间,呈圆形或椭圆形,胞体较大,胞核位于细胞中央(图1)。幼龄期奶山羊睾丸生精上皮主要由精原细胞和支持细胞组成,LCs分布于ST之间(图1a和1d)。初情期和成年期的睾丸生精上皮由各级生精细胞和支持细胞构成,LCs成群分布并逐渐向间质中央移动;初情期可观察

到变态发育的精子细胞 (图 1b 和 1e), 成年期的 ST 管腔内可见精子 (图 1c 和 1d)。性成熟后, 睾丸生精上皮的长度和 ST 直径极显著增加 (图 1g 和 1h)。

表 1 qPCR 引物信息
Tab. 1 Primer information

基因名 gene name	引物序列 (5'→3') primer sequence	产物长度/bp product length	T _m /°C
胆固醇转运相关基因 cholesterol transport-related genes	<i>StAR</i> F: TACTAAAGGAGCCGTGGATAAAG; R: CTACAAGTGGTAATGGTTGGGTT	577	58
	<i>TSP0</i> F: ACCCAGTACATCCGTGGAGA; R: CCAGATGCGGTAGTTGAGCA	423	60
	<i>VDAC1</i> F: ACAAGACCGATGAGTTCCAGC; R: TGTTCACTTTAGCCGAGAAGC	198	60
	<i>VDAC2</i> F: CGACCTACGGACAGAACTGC; R: GATGTTGAGAATTCCACGCCG	160	60
睾酮合成相关基因 testosterone synthesis-related genes	<i>Cyp11a1</i> F: ATCCACTTTCGCCACATCG; R: GGTCTTCTTCCAGGCTCCT	232	58
	<i>Cyp17a1</i> F: CTGAAGGCCATACAAAATGTCA; R: TTATTGTCTGCATTACCTTGG	245	57
	<i>3β-HSD</i> F: CTATGTTGGCAATGTGGC; R: ATCTCGCTGAGCTTCTTAT	340	55
	<i>3α-HSD</i> F: GATACTGGCTTTGGAACTTGG; R: TTACATCCAGAAGCACGGTATG	142	58
	<i>SRD5A1</i> F: TACTTCGGAGAAGTCGTGGAGT; R: ATGGTACCATTGTGATGTTGC	129	60
	<i>SRD5A2</i> F: TACGGTTTAGCCTGGGTGTC; R: ACAAGCCACCTTGTGGAATC	126	59
	<i>SRD5A3</i> F: AGGCAGGAGTGGTCATTAC; R: TATGTTACCACGAGCCACCA	157	59
	<i>17β-HSD-1</i> F: GATCCCTGGGTCAAGTAGGAAATGC; R: AGGTGCGTATATGTGTGCTCAGTTG	133	62
睾丸间质细胞 成熟关键基因 key genes in the maturation of Leydig cells	<i>NR3C4</i> F: AGGCACTGCTGCTCTTAGC; R: GGAGCTTGGTGAGCTGGTAG	165	60
	<i>InsI3</i> F: GGCTGGAAGGACAACATCTC; R: GACAGAGGGTCAGCAGGTCT	183	59
	<i>17β-HSD-3</i> F: TGCATTTTCTGCACTTCTG; R: GATGGCCTGAAGTTTTC	177	55
内参基因 reference genes	<i>GAPDH</i> F: AACGTGTCCGTTGTGGATCT; R: GAGTGTGCTGTTGAAGTCG	157	60

不同发育阶段 LCs 中睾酮合成关键酶 3β-HSD 的免疫组织化学检测结果 (图 2) 显示: 幼龄期 LCs 中的 3β-HSD 呈弱阳性表达 (图 2a 和 2d); 初情期和成年期呈强阳性表达 (图 2j), 且阳性反应主要分布于胞核周围的胞质中 (图 2b~c 和 2e~f)。油红 O 染色发现: 幼龄期 LCs 胞质中的脂滴较少 (图 2g), 而初情期和成年期的脂滴含量极显著增加 (图 2h~i 和 2k)。

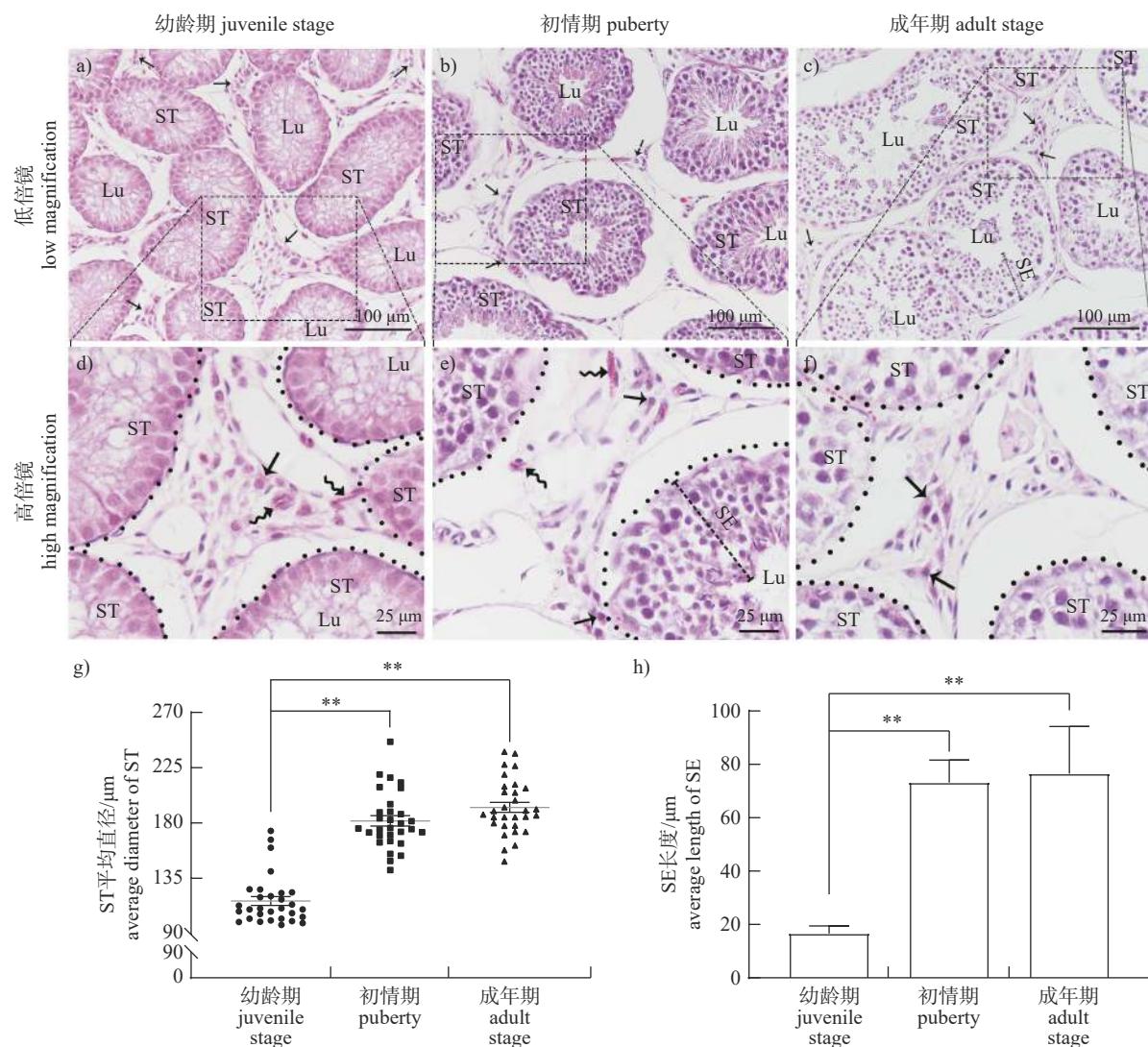
2.2 不同发育阶段奶山羊 LCs 的超微结构特征

透射电镜观察结果如图 3 所示。幼龄期 LCs 呈卵圆形, 胞核大而圆, 位于细胞中央, 胞质内分布线粒体、光面内质网等细胞器, 偶见小脂滴位于细胞边缘 (图 3a); 高倍镜下观察到细胞核双层膜结构, 线粒体分散在光面内质网之间 (图 3d); 体积较大, 嵴结构明显减少, 嵴与嵴之间空隙较

大, 线粒体与光面内质网间分布着大量呈簇状排列的细胞骨架结构 (直径约 10 nm)(图 3g)。初情期和成年期的 LCs 变大, 呈不规则多边形, 细胞核呈椭圆形位于细胞中央 (图 3b~c); 细胞核中异染色质明显较幼龄期多, 胞质内分布发达的光面内质网、线粒体、小脂滴等与类固醇合成相关的细胞器 (图 3e~f); 高倍镜下观察到线粒体嵴数量发达, 且线粒体与脂滴、光面内质网等细胞器发生直接的物理性接触 (图 3h~i)。随着性成熟, LCs 胞质内与类固醇合成有关的细胞器数量极显著增加 (图 3j~l), 细胞器间的直接接触为快速合成雄激素睾酮奠定了形态学基础。

2.3 不同发育阶段奶山羊 LCs 合成雄激素睾酮的水平

ELISA 检测结果 (图 4a) 显示: 幼龄期血清



注: d)、e)、f) 分别为 a)、b)、c) 黑色虚线方框中的高倍图; ST. 曲细精管, Lu. 曲细精管管腔, SE. 生精上皮; 黑色弯曲箭头指毛细血管, 黑色箭头指睾丸间质细胞 (LCs); **. 不同阶段之间存在极显著差异 ($P < 0.01$); 下同。

Note: d), e), f) are the higher magnifications of the corresponding black rectangles in a), b), c), respectively; ST. seminiferous tubules, Lu. lumen, SE. spermatogenic epithelium; black curved arrow refers to capillary, black arrow refers to Leydig cells (LCs); **. there are extremely significant differences among different stages ($P < 0.01$); the same as below.

图1 不同发育阶段奶山羊睾丸组织的 HE 染色

Fig. 1 HE staining of testis tissue in dairy goats at different development stages

中 LH 和睾酮的含量处于极低水平, 初情期和成年期 LH 和睾酮的含量显著或极显著升高。qPCR 检测结果 (图 4b) 显示: 胆固醇转运关键基因 *StAR* 和 *TSPO*, LCs 成熟相关基因 *NR3C4*、*Ins13* 和 *17 β -HSD-3*, 以及睾酮合成关键酶基因 *Cyp11a1*、*Cyp17a1*、*3 β -HSD* 和 *17 β -HSD-1* 的水平在初情期和成年期均显著或极显著高于幼龄期。Western-blot 检测睾酮合成关键酶的蛋白水平, 结果与基因表达水平一致 (图 4c~d)。这些结果表明: 奶山羊 LCs 合成雄激素睾酮能力与其成熟过程密切相关。

3 讨论

睾酮属于 LCs 合成分泌的类固醇激素, 作为动物体内重要的性激素, 在性器官的发育成熟、精子发生、维持雄性第二性征等方面发挥着关键作用^[11]。LCs 合成睾酮受 HPT 轴精确调控, 其睾酮的合成能力与发育成熟过程密切相关^[12]。

哺乳动物 LCs 分为 2 种类型: 胎儿型 LCs 和出生后成熟 LCs。在啮齿类动物中, SLCs 分化发育为 ALCs 需要经历 PLCs 和 ILCs 两个过渡阶段^[13]。在该过程中, HPT 轴协同血小板衍生生长因子、

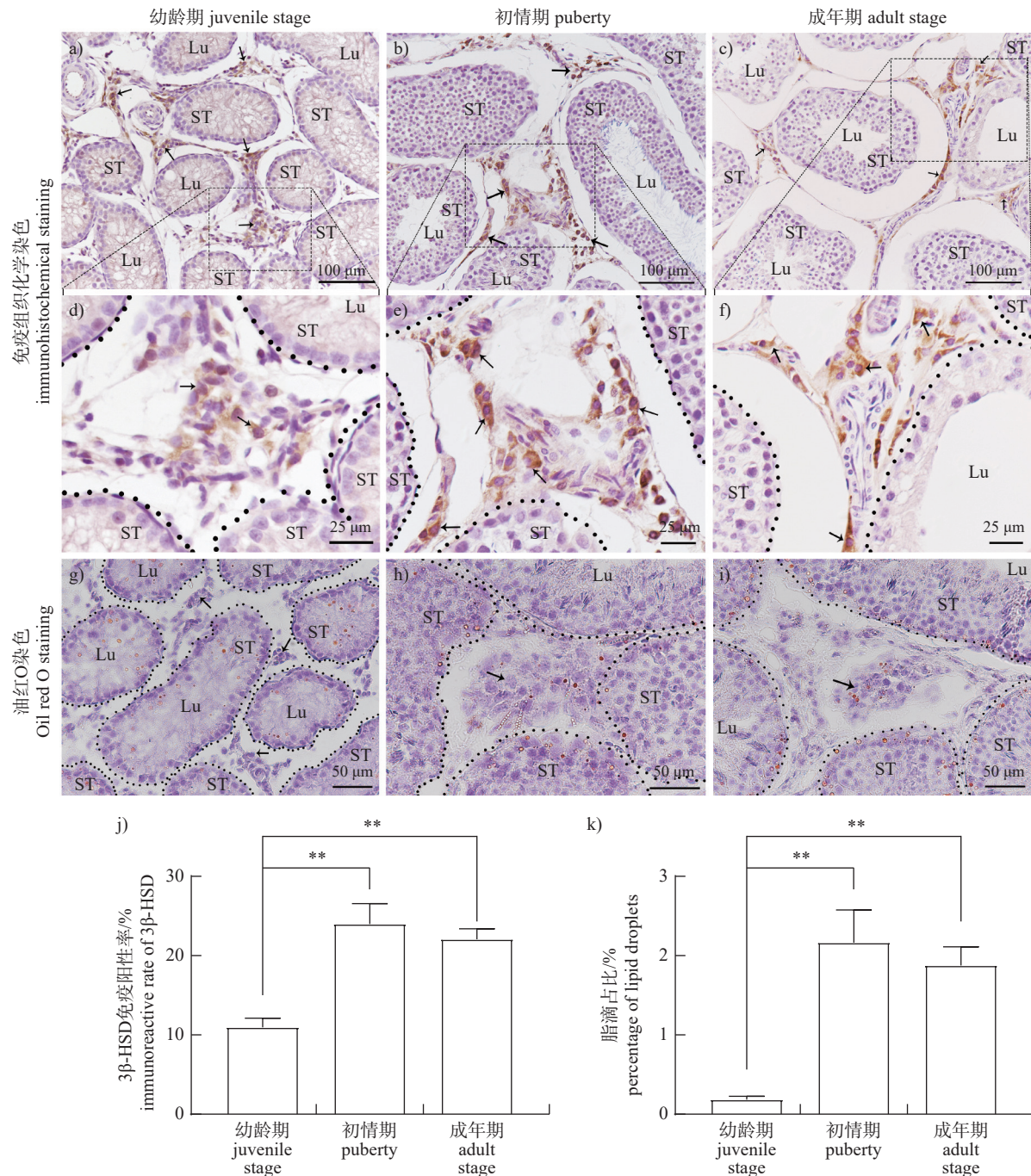
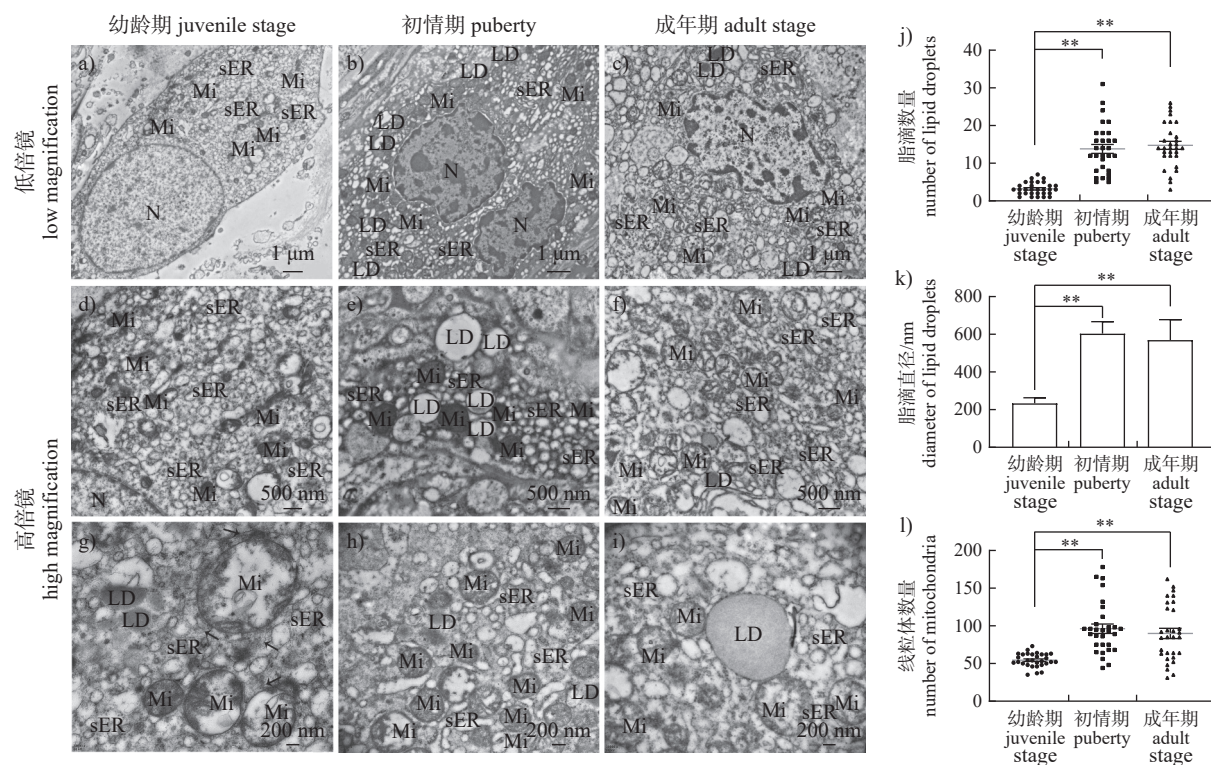


图 2 不同发育阶段奶山羊 LCs 的分布特点

Fig. 2 Distribution characteristics of LCs at different development stages

胰岛素生长因子 I、肿瘤坏死因子、白介素等细胞因子调控 LCs 的增殖、分化和成熟^[14], 其中以 HPT 轴分泌的促性腺激素释放激素 (gonadotrophin releasing hormone, GnRH)、促性腺激素抑制激素 (gonadotrophin inhibiting hormone, GnIH) 和 LH 起主要调控作用^[15]。对于家畜而言, 性成熟前 HPT 轴未被激活, LCs 长期处于静息状态, 此时的 LCs

称为幼龄期 LCs^[16]; 在初情期, 随着 HPT 轴被激活并释放大量的 LH, 进而激活 cAMP-PKA 信号通路, 促进雄激素睾酮合成^[17], 此时的 LCs 称为成熟期 LCs, 胞质内除类固醇合成关键基因表达水平增强外, 与类固醇合成有关的细胞器也出现显著的变化^[18]。本研究利用多种形态学方法观察不同发育阶段奶山羊 LCs 的结构特征, 结果表



注: N. 细胞核, Mi. 线粒体, sER. 光面内质网, LD. 脂滴; 黑色箭头指细胞骨架; 脂滴和线粒体的数量以单个 LCs 中的数量统计。

Note: N. nucleus, Mi. Mitochondria, sER. smooth endoplasmic reticulum, LD. lipid droplet; black arrow refers to cytoskeleton; the numbers of LD and Mi are counted in per LCs.

图 3 不同发育阶段奶山羊 LCs 的超微结构特征

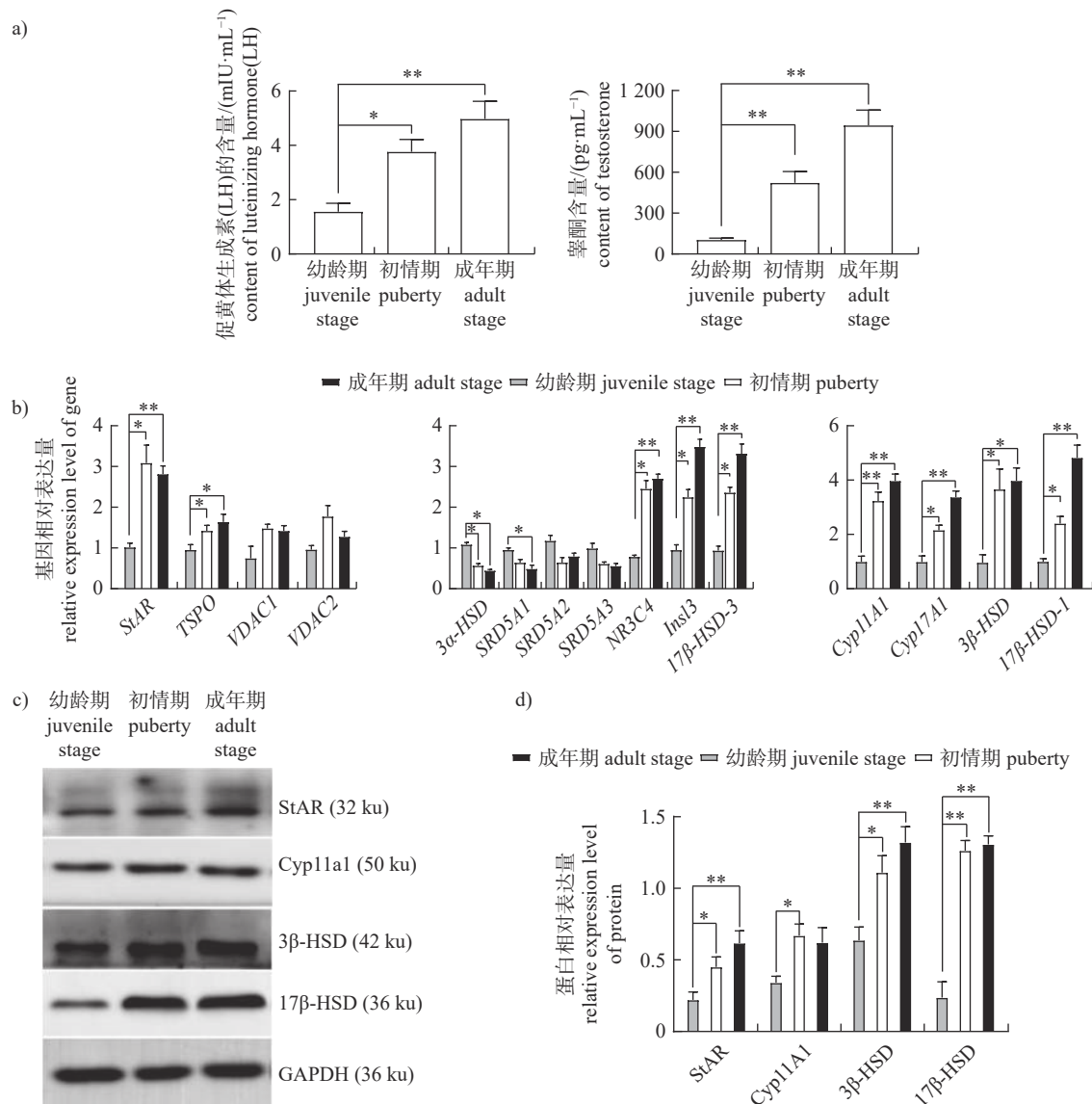
Fig. 3 Ultrastructural characteristics of LCs at different development stages

明: 初情期和成年期的 LCs 逐渐变大, 呈不规则多边形, 且 LCs 逐渐向间质中央移动; LCs 胞质内含有大量脂滴, 且脂滴与线粒体、光面内质网等细胞器密切接触, 这些与类固醇合成相关的细胞器大量出现, 为 LCs 快速合成雄激素睾酮奠定了物质基础。进一步通过 ELISA、qPCR 和 Western-blot 检测发现: 成熟期奶山羊 LCs 中雄激素睾酮合成关键酶的表达水平显著高于幼龄期, 且血清中 LH 和睾酮的含量也显著高于幼龄期。ISRAEL 等^[9]研究表明: LCs 内存在一系列高度特异性的甾体酶系, 它们按照一定的规律分布于线粒体、光面内质网等细胞器, 在 HPT 轴的调控下适时分泌睾酮, 维持动物机体发育和生殖需求。这些研究结果提示: LCs 合成雄激素的能力与其发育过程密切相关。

类固醇激素的合成始于游离胆固醇, 而胆固醇可在细胞内以胆固醇酯的形式储存于细胞器脂滴中^[19]。有学者在人类、猕猴以及啮齿类动物的肾上腺上皮细胞脂滴中检测到大量与类固醇激素

合成相关的酶及线粒体蛋白^[20]。脂滴是一种储存中性酯的多功能细胞器, 普遍存在于各种动物的各类细胞中。在脂肪组织中, 脂滴主要以甘油三酯的形式存在, 其水解后释放的游离脂肪酸经线粒体 β -氧化作用产生 ATP, 供给细胞能量^[21]; 而在类固醇激素合成的细胞中, 脂滴主要以若干体积较小的方式存在, 其主要作用是释放游离胆固醇, 用于类固醇激素的合成^[22]。

本研究通过油红 O 染色和改良后的透射电镜方法观察发现: 幼龄期 LCs 内脂滴的含量极少; 而初情期和成年期 LCs 内脂滴的含量极显著增加。值得注意的是, LCs 内脂滴与线粒体、内质网等细胞器发生直接物理性接触, 这为高效合成睾酮提供了形态学基础。此外, 透射电镜下还观察到类固醇合成的细胞器周围分布大量的细胞骨架, 其可能参与睾酮的合成。还有研究表明: 特异性的敲除 Vimentin 可显著抑制小鼠类固醇激素的合成^[23-24]。综上所述, 哺乳动物 LCs 合成睾酮的能力与胞内胆固醇的来源密切相关。



注: *. 不同阶段之间存在显著差异 ($P < 0.05$).

Note: *. there are significant differences among different stages ($P < 0.05$).

图 4 不同发育阶段奶山羊 LCs 合成睾酮的水平

Fig. 4 Testosterone synthesis levels of LCs at different development stages

4 结论

奶山羊睾酮的合成与 LCs 的成熟过程密切相关, LCs 中的脂滴具有参与睾酮合成的形态学依据。研究结果为揭示奶山羊睾酮合成的分子机制奠定了形态学基础, 也为进一步完善哺乳动物精子发生调控网络提供了参考。

[参考文献]

- [1] 赵启南, 金海, 孟子琪, 等. 关于我国奶山羊产业高质量发展的思考[J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57(6): 261. DOI: 10.19556/j.0258-7033.20210309-09.
- [2] SHIRAIISHI K, OKA S, MATSUYAMA H. Testicular testosterone and estradiol concentrations and aromatase expression in men with nonobstructive azoospermia[J]. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2021, 106(4): e1803. DOI: 10.1210/clinem/dgaa860.
- [3] 徐畅, 张姘, 谭成全, 等. α -酮戊二酸/酮戊二酸受体1系统对雄性动物睾酮分泌和精子生成的影响[J]. 动物营养学报, 2022, 34(5): 3286. DOI: 10.3969/j.issn.1006-267x.2022.05.054.
- [4] SMITH L B, WILLIAM H W. The regulation of spermatogenesis by androgens[J]. Seminars in Cell and Developmental Biology, 2014, 30: 2. DOI: 10.1016/j.semcdb.2014.02.012.
- [5] 侯晓鸿, 郝卫东. 丘脑—垂体—性腺轴调节睾酮合成的

- 研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 2018, 30(6): 483. DOI: [10.3969/j.issn.1004-616x.2018.06.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-616x.2018.06.013).
- [6] CHEN H L, GE R S, ZIRKIN B R. Leydig cells: from stem cells to aging[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2009, 306(1/2): 9. DOI: [10.1016/j.mce.2009.01.023](https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.01.023).
- [7] LI X H, ZHU Q Q, WEN Z N, et al. Androgen and luteinizing hormone stimulate the function of rat immature Leydig cells through different transcription signals[J]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12: 599149. DOI: [10.3389/fendo.2021.599149](https://doi.org/10.3389/fendo.2021.599149).
- [8] SVECHNIKOV K, IZZO G, LANDREH L, et al. Endocrine disruptors and Leydig cell function[J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2010, 2010(5): 684504. DOI: [10.1155/2010/684504](https://doi.org/10.1155/2010/684504).
- [9] ISRAEL J, CABELGUEN J, MASSON G L, et al. Neonatal testosterone suppresses a neuroendocrine pulse generator required for reproduction[J]. Nature Communications, 2014, 5(1): 3285. DOI: [10.1038/ncomms4285](https://doi.org/10.1038/ncomms4285).
- [10] VERHAGEN I, RAMASWAMY S, TEERDS K J, et al. Time course and role of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the expansion of the Leydig cell population at the time of puberty in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*)[J]. Andrology, 2014, 2(6): 924. DOI: [10.1111/andr.275](https://doi.org/10.1111/andr.275).
- [11] ZITZMANN M. Testosterone, mood, behaviour and quality of life[J]. Andrology, 2020, 8(6): 1598. DOI: [10.1111/andr.12867](https://doi.org/10.1111/andr.12867).
- [12] GROSSMANN M, WITTERT G A. Dysregulation of the hypothalamic-pituitary-testicular axis due to energy deficit[J]. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2021, 106(12): e4861. DOI: [10.1210/clinem/dgab517](https://doi.org/10.1210/clinem/dgab517).
- [13] BHATTACHARYA I, DEY S. Emerging concepts on Leydig cell development in fetal and adult testis[J]. Frontiers in Endocrinology, 2023, 13: 1086276. DOI: [10.3389/fendo.2022.1086276](https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1086276).
- [14] CHEN H L, WANG Y Y, GE R S, et al. Leydig cell stem cells: identification, proliferation and differentiation[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2017, 445(16): 65. DOI: [10.1016/j.mce.2016.10.010](https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.10.010).
- [15] 汤亚茹, 阳美霞, 贾金美, 等. GnRH过表达载体构建及其对小鼠睾丸间质细胞的作用研究[J]. 畜牧兽医学报, 2021, 52(10): 2969. DOI: [10.11843/j.issn.0366-6964.2021.010.028](https://doi.org/10.11843/j.issn.0366-6964.2021.010.028).
- [16] HAIDER S G. Cell biology of Leydig cells in the testis[J]. International Review of Cytology, 2004, 233: 181. DOI: [10.1016/S0074-7696\(04\)33005-6](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(04)33005-6).
- [17] HO H J, SHIRAKAWA H, YOSHIDA R, et al. Geranylgeraniol enhances testosterone production via the cAMP/protein kinase A pathway in testis-derived I-10 tumor cells[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2016, 80(4): 791. DOI: [10.1080/09168451.2015.1123612](https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1123612).
- [18] SVECHNIKOV K, LANDREH L, WEISSER J, et al. Origin, development and regulation of human Leydig cells[J]. Hormone Research in Paediatrics, 2010, 73(2): 93. DOI: [10.1159/000277141](https://doi.org/10.1159/000277141).
- [19] SHEN W J, AZHAR S, KRAEMER F B. Lipid droplets and steroidogenic cells[J]. Experimental Cell Research, 2016, 340(2): 209. DOI: [10.1016/j.yexcr.2015.11.024](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2015.11.024).
- [20] YU J H, ZHANG L Q, LI Y H, et al. The adrenal lipid droplet is a new site for steroid hormone metabolism[J]. Proteomics, 2018, 18(23): e1800136. DOI: [10.1002/pm-bic.201800136](https://doi.org/10.1002/pm-bic.201800136).
- [21] ZHOU L K, YU M, ARSHAD M, et al. Coordination among lipid droplets, peroxisomes, and mitochondria regulates energy expenditure through the CIDE-ATGL-PPAR α pathway in adipocytes[J]. Diabetes, 2018, 67(10): 1935. DOI: [10.2337/db17-1452](https://doi.org/10.2337/db17-1452).
- [22] KRAEMER F B, KHOR V K, SHEN W J, et al. Cholesterol ester droplets and steroidogenesis[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2013, 371(1/2): 15. DOI: [10.1016/j.mce.2012.10.012](https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.10.012).
- [23] 杨书红, 唐维成, 王世宣. 细胞骨架调控卵巢激素合成机制的研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(16): 3869. DOI: [10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2019.16.72](https://doi.org/10.7620/zgfybj.j.issn.1001-4411.2019.16.72).
- [24] SHEN W J, ZAIDI S K, PATEL S, et al. Ablation of vimentin results in defective steroidogenesis[J]. Endocrinology, 2012, 153(7): 3249. DOI: [10.1210/en.2012-1048](https://doi.org/10.1210/en.2012-1048).

责任编辑: 何馨成